

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号
特表2003-532790
(P2003-532790A)

(43)公表日 平成15年11月5日 (2003.11.5)

(51)Int.Cl.⁷
C 0 9 B 23/00
C 1 2 Q 1/02
1/68
G 0 1 N 33/48
33/483

識別記号

F I
C 0 9 B 23/00
C 1 2 Q 1/02
1/68
G 0 1 N 33/48
33/483

マークコード^{*} (参考)
M 2 G 0 4 5
4 B 0 6 3
A 4 H 0 5 6
P
C

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 100 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001-583158(P2001-583158)
(86) (22)出願日 平成13年5月4日(2001.5.4)
(85)翻訳文提出日 平成14年11月1日(2002.11.1)
(86)国際出願番号 PCT/US01/14522
(87)国際公開番号 WO01/086264
(87)国際公開日 平成13年11月15日(2001.11.15)
(31)優先権主張番号 09/566, 298
(32)優先日 平成12年6月5日(2000.5.5)
(33)優先権主張国 米国(US)
(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY,
DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LU, MC, NL, PT, SE, TR), JP

(71)出願人 コールター インターナショナル コーポ
レイション
アメリカ合衆国, フロリダ 33196,マイ
アミ, 32-エ-02, サウスウェスト 147
アベニュー 11800
(72)発明者 デカ, チランジト
アメリカ合衆国, フロリダ 33196,マイ
アミ, サウスウェスト 164 ブレース
10063
(74)代理人 弁理士 石田 敏 (外4名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 未成熟赤血球細胞における核酸の検出用色素及び方法

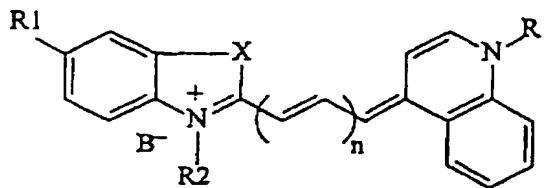
(57)【要約】

本発明に係る色素は、それらが結合される分子又は化合物の存在を検出するためのマーカー又はタグを含む多くの目的に有用である。上記色素は赤色-励起可能又は青色-励起可能でありうる。本発明に係る色素は核酸の染色に特によく合う。例えば、これらの色素は網状赤血球内のRNAの染色に特に好適である。他の例示的な使用においては、これらの色素は有核の赤血球内のDNAの染色に好適である。典型的に、核酸の染色において使用されるととき、上記色素は試薬溶液中に調合される。さらに、本発明は色素分子の細胞膜の通過を促進するための組成物及び方法を提供する。上記述い染色はサンプルが少なくとも1の界面活性剤、そして場合によりスルフオニ酸又はその塩の存在下で、本発明に係る色素組成物で接触されることを必要とする。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 以下の式：

【化1】



を有する色素であって、nは0、1、2又は3である；R₁はH、アルキル又はアルコキシ基である；R₂はCH₂、(CH₂)_mOHであり、ここで、mは0、1、2又は3である；XはO、S又はC(CH₃)₂である；RはCH₃、CH(CH₃)₂、CH₂CH₂OH、アルキル、アルキルスルフォネート又はヒドロキシアルキルである及びB-は対陰イオンである色素。

【請求項2】 nは1であり、R₁はHであり、RはCH₂CH₂OHであり、R₂はCH₂CH₂OHであり、そしてXはSである、請求項1に記載の色素。

【請求項3】 nは1であり、R₁はHであり、RはCH(CH₃)₂であり、R₂はCH₂CH₂OHであり、そしてXはSである、請求項1に記載の色素。

【請求項4】 nは1であり、R₁はHであり、RはCH₃であり、R₂はCH₂CH₂OHであり、そしてXはSである、請求項1に記載の色素。

【請求項5】 nは1であり、R₁はCH₃であり、RはCH₃であり、R₂はCH₂CH₂OHであり、そしてXはSである、請求項1に記載の色素。

【請求項6】 nは1であり、R₁はCH₃であり、RはCH(CH₃)₂であり、R₂はCH₂CH₂OHであり、そしてXはSである、請求項1に記載の色素。

【請求項 7】 n は 1 であり、 R_1 は CH_3 であり、 R は CH_2CH_2OH であり、 R_2 は CH_2CH_2OH であり、そして X は S である、請求項 1 に記載の色素。

【請求項 8】 請求項 1 に記載の色素を含む、核酸染色用色素組成物。

【請求項 9】 請求項 1 に記載の色素を含む、網状赤血球染色用色素組成物。

【請求項 10】 さらに界面活性剤を含む、請求項 9 に記載の網状赤血球染色用色素組成物。

【請求項 11】 さらに約 0 から約 1 %までの量で洗剤を含む、請求項 9 に記載の色素組成物。

【請求項 12】 前記洗剤はオクチルフェノキシポリ（エチレンオキシ）エタノール、エトキシル化オクチルフェノール、直鎖アルコールアルコキシレートから成る群から選ばれる、請求項 11 に記載の色素組成物。

【請求項 13】 さらにスルfonyl 酸又はその塩を含む、請求項 9 に記載の色素組成物。

【請求項 14】 前記界面活性剤は非一イオン性界面活性剤を含む、請求項 10 に記載の色素組成物。

【請求項 15】 前記非一イオン性界面活性剤はドデシル- β -D-マルトシド、N, N-ビス [3-D-グルコンーアミドプロピル] コールアミド、ポリオキシプロピレン-ポリオキシエチレンブロック共重合体、N-テトラデシル- β -D-マルトシド、ダコニル-N-メチルグルカミド、n-ドデシル- β -D-グルコピラノシド、n-デシル- β -D-グルコピラノシド、ステアリン酸のポリエチレングリコールエステル、エトキシル化ココモノグリセリド、オクチフェノキシポリ（エチレンオキシ）エタノール、エトキシル化オクチルフェノール、及び直鎖アルコールから成る群から選ばれる、請求項 14 に記載の色素組成物。

【請求項 16】 前記界面活性剤は陽イオン性界面活性剤を含む、請求項 10 に記載の色素組成物。

【請求項 17】 前記陽イオン性界面活性剤はココヒドロキシエチルイミダ

ゾリン、塩化ラウリルトリメチルアンモニウム、臭化デシルトリメチルアンモニウム、及び臭化オクチルトリメチルアンモニウムから成る群から選ばれる、請求項16に記載の色素組成物。

【請求項18】 前記界面活性剤は陰イオン性界面活性剤を含む、請求項10に記載の色素組成物。

【請求項19】 前記陰イオン性界面活性剤はアンモニウムペルフルオルアルキルカルボキシレート、ナトリウムラウロイルミリストイルラクチレートから成る群から選ばれる、請求項18に記載の色素組成物。

【請求項20】 前記界面活性剤は双極性イオン性界面活性剤を含む、請求項10に記載の色素組成物。

【請求項21】 前記双極性界面活性剤はラウルアミドプロピルベタイン、N-テトラデシル-N、N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネート、N-ドデシル-N、N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネート、ココアミドプロピルベタイン、ココアミドスルフォベタイン、N-ドデシル-N、N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネート、及びN-テトラデシル-N、N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネートから成る群から選ばれる、請求項20に記載の色素組成物。

【請求項22】 さらに保存料を含む、請求項9に記載の色素組成物。

【請求項23】 前記保存料は5-クロロー-2-メチル-4-イソチアゾリジン-3-オン及び2-メチル-4-イソチアゾリジン-3-オンを含む、請求項22に記載の色素組成物。

【請求項24】 前記スルфон酸はp-トルエンスルfonyl酸である、請求項13に記載の色素組成物。

【請求項25】 前記p-トルエンスルfonyl酸の濃度は約0.01～約250μMである、請求項24に記載の色素組成物。

【請求項26】 前記スルfon酸塩はp-トルエンスルfonyl酸ナトリウム、p-トルエンスルfonyl酸銀、p-トルエンスルfonyl酸亜鉛から成る群から選ばれる、請求項13に記載の色素組成物。

【請求項27】 前記p-トルエンスルfonyl酸ナトリウムの濃度は約0.

0.1～約250μMである、請求項26に記載の色素組成物。

【請求項28】 核酸を含むサンプルを請求項1に記載の色素と接触させる段階を含む、核酸染色法。

【請求項29】 前記サンプルは細胞を含み、そして前記サンプルは界面活性剤の存在下で上記色素により接触される、請求項28に記載の方法。

【請求項30】 前記サンプルは全血を含む、請求項28に記載の方法。

【請求項31】 (a) 網状赤血球を含むサンプルを請求項1に記載の化合物と接触させ、それにより上記網状赤血球が前記化合物により染色される；及び
(b) 網状赤血球の存在を検出するために、染色された網状赤血球を流動細胞光度測定法により分析する：の段階を含む、網状赤血球分析法。

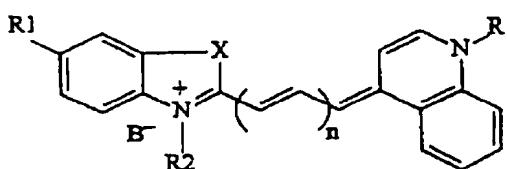
【請求項32】 流動細胞光度測定法による前記分析は1の蛍光パラメーター及び光分散、光学吸収、軸光損失、DC電気インピーダンス、及び無線周波数(RF)伝導性及びそれらの組み合わせから成る群から選ばれる少なくとも1のパラメーターの計測を含む、請求項31に記載の方法。

【請求項33】 (a) 細胞を含むサンプルを請求項1に記載の色素、界面活性剤、及びスルfonyl酸又はその塩と接触させる、及び
(b) 前記混合物を約1分間までインキュベートする
の段階を含む、色素組成物の細胞膜の通過を促進する方法。

【請求項34】 前記インキュベーションは約20℃～約40℃の温度範囲で行われる、請求項33に記載の方法。

【請求項35】 以下の式：

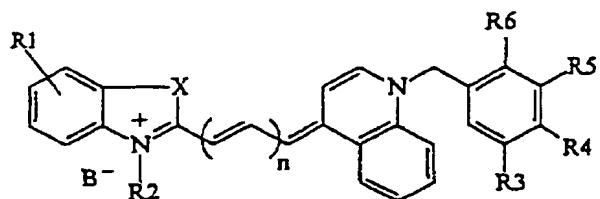
【化2】



を有する色素であって、nは0、1、2又は3である；R₁はH、アルキル又はアルコキシ基である；R₂はCH₂-(CH₂)_mOAcであり、ここで、mは0、1、2又は3である；XはO、S又はC(CH₃)₂である；RはCH₃、CH(CH₃)₂、CH₂CH₂OAc、アルキル、アルキルスルホネート又はヒドロキシアルキル及びB-は対陰イオンである、色素。

【請求項36】 以下の式：

【化3】



に記載の色素であって、nは0、1又は2である；R₁はH、アルキル又はアルコキシ基である；R₂はCH₂-(CH₂)_mOH又はCH₃である；XはO、S又はC(CH₃)₂である；B-は対陰イオンである、そしてR₃、R₄、R₅、R₆は特定化合物色素-3～色素-6についての式により示されるさまざまな置換基である、色素。

【請求項37】 n=1；R₁=H；R=CH₃、R₂=CH₂CH₂OAc；X=S、及びB-はBr-である、請求項35に記載の色素。

【請求項38】 n=1、R₁=H、R₂=R=CH₂CH₂OAc、X=S、及びB-はBr-である、請求項35に記載の色素。

【請求項39】 n=1；X=S；R₁=CH₂CH₂OH；R₂=R₄=R₅=H；R₃=COCH₃；及びB-はBr-である、請求項36に記載の色素。

【請求項40】 n=1；X=S；R₁=CH₂CH₂OH；R₂=R₄=R₅=H；R₃=COCH₃；及びB-はBr-である、請求項36に記載の色

素。

【請求項4 1】 $n = 1$; $X = S$; $R_1 = CH_2CH_2OH$; $R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$; 及び B^- は B_{tr}^- である、請求項3 6に記載の色素。

【請求項4 2】 $n = 1$; $X = S$; $R_1 = CH_2CH_2OH$; $R_2 = R_3 = R_4 = H$; $R_5 = B(OH)_2$; 及び B^- は I^- である、請求項3 6に記載の色素。

【請求項4 3】 溶媒中に溶解された請求項3 5又は請求項3 6に記載の化合物を含む、核酸染色用色素組成物。

【請求項4 4】 請求項3 5又は請求項3 6に記載の化合物を含む、血液細胞染色用色素組成物。

【請求項4 5】 上記血液細胞は有核の赤血球である、請求項3 5又は請求項3 6に記載の化合物を含む、血液細胞染色用色素組成物。

【請求項4 6】 上記血液細胞は網状赤血球である、請求項3 5又は請求項3 6に記載の化合物を含む、血液細胞染色用色素組成物。

【請求項4 7】 さらに界面活性剤を含む、請求項4 4に記載の網状赤血球染色用色素組成物。

【請求項4 8】 さらに約0%～約1%までの量で洗剤を含む、請求項4 4に記載の色素組成物。

【請求項4 9】 前記洗剤はオクチルフェノキシポリ(エチレンオキシ)エタノール、エトキシリ化オクチルフェノール、及び直鎖アルコールアルコキシレートから成る群から選ばれる、請求項4 8に記載の色素組成物。

【請求項5 0】 さらにスルfonyl酸又はその塩を含む、請求項4 4に記載の色素組成物。

【請求項5 1】 前記界面活性剤は非イオン性界面活性剤を含む、請求項4 7に記載の色素組成物。

【請求項5 2】 前記非イオン性界面活性剤はドデシル- β -D-マルトシド、N,N-ビス[3-D-グルコンーアミドプロピル]コールアミド、ポリオキシプロピレン-ポリオキシエチレンブロック共重合体、N-テトラデシル- β -D-マルトシド、ダコニル-N-メチルグルカミド、n-ドデシル- β -D

ーーグルコピラノシド、n-デシル- β -D-グルコピラノシド、ステアリン酸のポリエチレングリコールエステル、エトキシリ化ココモノグリセリド、オクチルフェノキシポリ(エチレンオキシ)エタノール、エトキシリ化オクチルフェノール、及び直鎖アルコールアルコキシレートから成る群から選ばれる、請求項51に記載の色素組成物。

【請求項53】 前記界面活性剤は陽イオン性界面活性剤を含む、請求項47に記載の色素組成物。

【請求項54】 前記陽イオン性界面活性剤はココヒドロキシエチルイミダゾリン、塩化ラウリルトリメチルアンモニウム、臭化デシルトリメチルアンモニウム、及び臭化オクチルトリメチルアンモニウムからなる群から選ばれる、請求項53に記載の色素組成物。

【請求項55】 前記界面活性剤は陰イオン性界面活性剤を含む、請求項47に記載の色素組成物。

【請求項56】 前記陰イオン性界面活性剤はアンモニウムペルフルオロアルキルカルボキシレート、ナトリウムラウロイルミリストイルラクチレートから成る群から選ばれる、請求項55に記載の色素組成物。

【請求項57】 前記界面活性剤は双極性界面活性剤を含む、請求項47に記載の色素組成物。

【請求項58】 前記双極性界面活性剤はラウルアミドプロピルベタイン、N-テトラデシル-N、N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネート、N-ドデシル-N、N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネート、ココアミドプロピルベタイン、ココアミドスルフォベタイン、N-ドデシル-N、N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネート、及びN-テトラデシル-N、N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネートから成る群から選ばれる、請求項57に記載の色素組成物。

【請求項59】 さらに保存料を含む、請求項44に記載の色素組成物。

【請求項60】 前記保存料は5-クロロー-2-メチル-4-イソチアゾリジン-3-オン及び2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンを含む、請求項59に記載の色素組成物。

【請求項61】 前記スルfonyl酸はp-トルエンスルfonyl酸である、請求項50に記載の色素組成物。

【請求項62】 前記p-トルエンスルfonyl酸の濃度は約0.01～約250μMである、請求項61に記載の色素組成物。

【請求項63】 前記スルfonyl酸塩はp-トルエンスルfonyl酸ナトリウム、p-トルエンスルfonyl酸銀、p-トルエンスルfonyl酸亜鉛から成る群から選ばれる、請求項50に記載の色素組成物。

【請求項64】 前記p-トルエンスルfonyl酸ナトリウムの濃度は約0.01～約250μMである、請求項63に記載の色素組成物。

【請求項65】 核酸を含むサンプルを請求項35又は請求項36に記載の色素と接触させる段階を含む、核酸染色方法。

【請求項66】 前記サンプルは血液細胞を含む、請求項65に記載の方法。

【請求項67】 前記サンプルは界面活性剤の存在下で上記色素により接触される、請求項66に記載の方法。

【請求項68】 前記サンプルは成熟赤血球及び網状赤血球は溶解するが、有核の赤血球は保持した後に、上記色素により接触される、請求項66に記載の方法。

【請求項69】 (a) 網状赤血球を含むサンプルを請求項35又は請求項36に記載の化合物で接触させることにより、上記網状赤血球は前記化合物により染色される；及び (b) 網状赤血球の存在を検出するために、流動細胞光度測定法により染色された網状赤血球を分析する：の段階を含む、網状赤血球の分析方法。

【請求項70】 流動光度測定法による前記分析は1の蛍光パラメーター及び光分散、光学吸収、軸光損失、DC電気インピーダンス、及び無線周波数(RF)伝導性及びそれらの組み合わせから成る群から選ばれる少なくとも1のパラメーターの計測を含む、請求項69に記載の方法。

【請求項71】 (a) 細胞を含むサンプルを請求項35又は請求項36に記載の色素、界面活性剤、及びスルfonyl酸又はその塩と接触させる、及び

(b) 前記混合物を約1分間までインキュベートする
の段階を含む、色素組成物の細胞膜の通過を促進させる方法。

【請求項72】 前記インキュベーションは約20℃～約40℃の温度範囲
で行われる、請求項67に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の分野

本発明は一般的に、蛍光核酸結合色素を使用することによる流動細胞光度測定法による、赤血球細胞における核酸の検出用新規色素、色素組成物、及び方法の分野に関する。より詳しくは、本発明は網状赤血球及び有核の赤血球の計測用試薬及び方法を提供する。

【0002】

発明の背景

赤血球の分析及びその未成熟の予備集団の計測は診断血液学の価値のある成分である。例えば、ヒト末梢血中の網状赤血球、すなわち、未成熟の赤血球の計測は出血、貧血の診断、骨髄移植のモニターにおいて及び化学療法及び血液細胞産生に関する他の障害を経験する患者のモニターに有用である [米国特許第5, 360, 739; H. Shapiro, Practical Flow Cytometry, 3rd edit, 1995; Wiley-Liss, New York; Davis et al, (1990) Pathobiol., 58: 99-106; Hoy, (1990) Bailliere's Clin. Haemat., 3: 977-988; H. J. Tanke, Reticulocytes and Mature Erythrocytes in Flow Cytometry in Haematology (1992) Academic Press Ltd., pp. 75-93]。網状赤血球はリボ核酸 (RNA) を含むため、RNAに結合する励起可能な色素で染色されると、これらの細胞は好適な波長の光源により照射されたとき蛍光を発する。RNA結合色素はRNAを欠く成熟赤血球 (RBCs) から網状赤血球を区別するために使用されてきた。

【0003】

比較的大きな網状赤血球集団の蛍光強度の分布は速くそして信頼できる様式で流動細胞光度測定法により決定されることができ、そして網状赤血球の異なる成熟段階は、RNAの含有量における相違により反映されるように、区別されうる

赤色一励起可能な色素の使用は、上記色素は比較的費用のかからないダイオード又はHeNeレーザーで励起することにより検出されるので、所望される。しかしながら、ダイオードレーザー及び赤色一励起可能な色素を網状赤血球の高速流動細胞光度測定分析に使用するための、初期の分野におけるはじめの努力は成功ではなかった。Yamamoto, 米国特許第5, 563, 070号は、大量のTO-PRO-3、赤色一励起可能な色素の添加、それに続く30分間のインキュベーションは生きた網状赤血球内のRNAを染色することを示した。しかしながら、上記方法は、サンプル調製時間が長く、そしてそれぞれのサンプルを染色するのに必要とされる大量の色素のために試験当たりの費用が高いので、高いサンプル処理量を必要とする臨床研究室における網状赤血球の日常の分析には実用的でない。

【0004】

チアゾールブルー(TB)と呼ばれる赤色一励起可能な色素は米国特許第4, 957, 870号において示された。しかしながら、この特許(米国特許第4, 957, 870号)において示されるように、この色素も約30分間の、長いインキュベーション時間を必要とする。

Akai et al., 米国特許第5, 821, 127号も、赤色領域における蛍光を介して費用のかからない検出器を用いて網状赤血球を検出することができる蛍光色素の調製を示した。しかしながら、上記サンプルは約40℃の高温でのインキュベーションを必要とする。

【0005】

より最近では、米国特許第5, 994, 138号は、約35℃の高温での洗剤及びイオノフォアと共に赤色一励起可能な色素の使用を介して網状赤血球を染色することを示した。しかしながら、網状赤血球の染色は環境温度が使用されたとき成功ではなかった。

Fan et. al(米国第5, 411, 891号、米国第5, 360, 739号)は色素及び網状赤血球RNAの間の特異的結合定数及び上記色素の透過率はそれぞれの色素で異なり、そしてどんな状況下で特定の色素が赤血球膜を速

く通過し、網状赤血球を染色するのか予測することは不可能であることをはっきりと示す。このことはAkai et al (米国第5, 821, 127号)によりさらに支持された。

したがって、本分野において、赤色領域で励起可能であり、そして費用のかからない容易に入手可能な赤色一照明装置を使用しうる、色素の使用を介した、室温での細胞内RNAの速い染色を可能にする色素、組成物及び方法の必要性が存在する。さらに、本分野において、赤色一励起可能な色素にのみでなく、青色波長におけるように他の波長で励起可能な色素にも使用できる、色素組成物及び方法の必要性が存在する。そうすることにより、網状赤血球の容易で正確な検出が励起波長の特定の制限なしに達成されうる。

【0006】

網状赤血球に加えて、臨床診断において重要な未成熟の赤血球の他の型は有核の赤血球 (NRBCs) である。網状赤血球とは対照的に、NRBCsはDNAを含む。NRBCsは通常脊髄内に起こるが、末梢血中にはない。しかしながら、貧血及び白血病の如きある疾患においては、NRBCsは末梢血にも起こる。したがって、NRBCsを計測することは臨床的に重要である。NRBCsはDNAを含むので、蛍光検出及びNRBCsの計測はこれらの細胞をDNAを認識する色素で染色することにより可能でありうる。したがって、本分野において、NRBCs及び網状赤血球の両方が異なる方法を使用する同じ色素の使用を介して計測されうるよう、細胞内DNA及びRNAの両方を染色することができる、色素及び組成物の必要性が存在する。

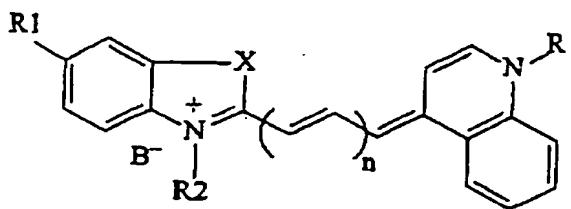
【0007】

発明の要約

1の局面においては、本発明は群I、群II、及び群IIIとして示される3群の新規色素を提供し：

群Iは以下の一般式：

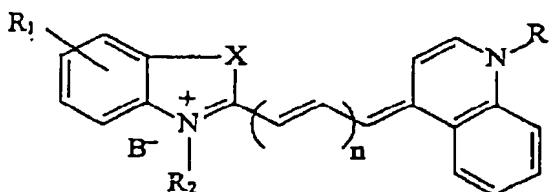
【化4】



を有し、式中、 n は0、1、2又は3であり； R_1 はH、アルキル又はアルコキシ基であり； R^2 は $CH_2 - (CH_2)_m OH$ であり、ここで、 m は0、1、2又は3であり； X はO、S又は $C(CH_3)_2$ であり； R は CH_3 、 $CH(CH_3)_2$ 、 CH_2CH_2OH 、アルキル、アルキルスルfonyate又はヒドロキシアルキルであり；そして B^- は対陰イオンである；

群I Iは以下の一般式：

【化5】



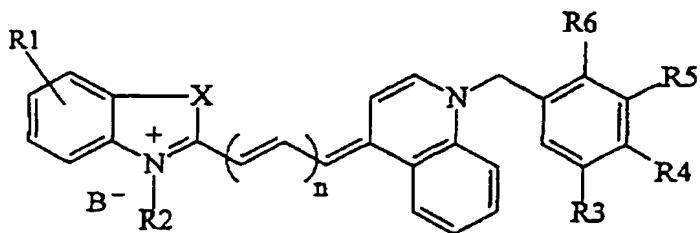
を有し、式中、 n は0、1、2又は3であり； R_1 はH、アルキル又はアルコキシ基であり； R_2 は $CH_2 - (CH_2)_m OAc$ であり、ここで、 m は0、1、2又は3であり； X はO、S又は $C(CH_3)_2$ であり； R は CH_3 、 $CH(CH_3)_2$ 、 CH_2CH_2OAc 、アルキル、アルキルスルfonyate又はヒドロキシアルキルであり；そして B^- は対陰イオンである；

【0008】

そして、

群-I I Iは以下の一般式：

【化6】



を有し、式中、 n は0、1又は2であり；R1はH、アルキル又はアルコキシ基であり；R2は CH_2 、 $(\text{CH}_2)_m$ 、OH又は CH_3 であり；XはO、S又はC(CH_3)₂であり； B^- は対陰イオンであり、そしてR3、R4、R5、R6は特定化合物色素-3～色素-6についての式により示されるさまざまな置換基である。

【0009】

他の局面においては、本発明は本発明に係る色素を含む試薬及び溶媒を提供する。

さらに他の局面においては、本発明は細胞膜を通る色素分子の速い通過を促進させる組成物及び方法を提供する。上記速い染色はサンプルが少なくとも1の界面活性剤及び場合によりスルfonyl酸又はその塩の存在下で本発明に係る色素組成物と接触されることを必要とする。

【0010】

本発明の他の局面及び利点は本発明の詳細な説明から容易に明らかになるであろう。

【0011】

発明の詳細な説明

本発明は、網状赤血球を染色するために細胞膜を通る色素の速い移動を促進するための組成物及び方法に加えて、核酸を染色する色素を提供する。都合の良いことに、本発明に係る色素は核酸に結合しているとき、結合していないときよりも、顕著に強い蛍光を示すことにより特徴付けられる。